

Die Vermehrung der Salmonellen bei tiefen Temperaturen

Hansjörg Johne

=

1961

Aus dem Institut für Tierhygiene der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München
Vorstand: Professor Dr. A. Meyn

DIE VERMEHRUNG DER SALMONELLEN
BEI TIEFEN TEMPERATUREN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der veterinär-medizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von
Hansjörg Johne

aus
Donaueschingen

München 1961

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Professor Dr. Adolf M e y n
Referent: Professor Dr. Adolf M e y n

Tag der Promotion: 26. Juli 1961



INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
I. Einleitung	1
II. Literatur	2
A. Einfluß der Temperaturen auf die Vermehrung von Mikroorganismen im allgemeinen	2
B. Die Keime der Typhus - Paratyphus - Enteritisgruppe (Salmonellen)	3
1.)Eigenschaften, Vorkommen, Systematik, Nomenklatur	3
2.)Die Vermehrungsfähigkeit der Salmonellen unterhalb +37° C, insbesondere bei Kühlraumtemperaturen	4
C. Bedeutung für die Lebensmittelhygiene	12
1.)Die Pathogenese von Lebensmittelvergiftungen durch Salmonellen	12
2.)Die Infektion von Lebensmitteln mit Salmonellen	13
III. Eigene Untersuchungen	16
A. Material und Methodik	16
1.)Versuche mit Bouillon und Milch	16
2.)Versuche mit Eiern	18
B. Versuche, Ergebnisse	19
1.)Versuche mit Bouillon und Milch	19
2.)Versuche mit Eiern	27
C. Besprechung der Ergebnisse	28
IV. Schlußzusammenfassung	34
V. Literaturverzeichnis	35



Digitized by the Internet Archive
in 2026

I. EINLEITUNG

Die Frage nach der Vermehrungsfähigkeit der Salmonellen bei tiefen Temperaturen ist von praktischem Interesse in der Lebensmittelhygiene. Es ist vor allem von Bedeutung, ob sich Salmonellen in Lebensmitteln vermehren können, wenn diese bei Kühlraumtemperaturen gelagert werden. Die Ansichten verschiedener Autoren darüber, die sich nur zum Teil auf experimentelle Untersuchungen stützen, weichen erheblich voneinander ab.

Herr Professor Dr. M e y n hat mich daher beauftragt, eigene Untersuchungen über die Vermehrungsfähigkeit der Salmonellen bei tiefen Temperaturen, insbesondere bei Kühlraumtemperaturen, durchzuführen.

II. LITERATUR

A. Einfluß der Temperatur auf die Vermehrung von Mikroorganismen im allgemeinen

Mikroorganismen benötigen für eine intensive Vermehrung eine optimale Temperatur. Je nach Lebensgewohnheiten, d. h. je nach der Anpassung im Laufe ihrer phylogenetischen Entwicklung an einen bestimmten Temperaturbereich liegt das Temperaturoptimum für verschiedene Keimarten oft weit auseinander. Man pflegt entsprechend der unterschiedlichen Anpassung an verschiedene Temperaturen die Mikroorganismen in drei Gruppen einzuteilen:

- 1.) Die thermophilen Keime, wie sie in heißen Quellen, im Boden oder in tierischen Abgängen vorkommen. Sie sind noch vermehrungsfähig bis $+90^{\circ}\text{C}$, ihr Temperaturminimum, bei dem eine Vermehrung gerade noch stattfindet, liegt zwischen $+40^{\circ}\text{C}$ und $+50^{\circ}\text{C}$.
- 2.) Die psychophilen (psychrotolerante) Keime, die als Wasserbakterien oder als Ursache der sogenannten Psychrophilenfäulnis des Kühlhausfleisches bekannt sind, haben ein Temperaturoptimum von $+14^{\circ}\text{C}$ bis $+20^{\circ}\text{C}$, das Temperaturminimum reicht bis zu -7°C .
- 3.) Zwischen beiden Gruppen stehen die mesophilen Keime, zu denen die meisten pathogenen Mikroorganismen, also auch die Salmonellen gehören. Als Parasiten sind sie an die Körpertemperatur des Wirtsorganismus angepaßt. Ihr Temperaturoptimum liegt daher meist bei $+37^{\circ}\text{C}$, das Temperaturminimum bei $+10^{\circ}\text{C}$ bis $+15^{\circ}\text{C}$.

Die parasitische Lebensweise der mesophilen Keime kann nun aber eine mehr oder weniger strenge sein, was in einer Verschiebung vor allem des Temperaturminimums nach oben oder unten zum Ausdruck kommt. Der Erreger der Geflügeltuberkulose beispielsweise, der ein ausschließlicher Parasit ist, kann sich unterhalb $+35^{\circ}\text{C}$ nicht mehr vermehren. Sein Temperaturoptimum liegt bei $+37^{\circ}\text{C}$ bis $+43^{\circ}\text{C}$. Bei pathogenen Keimen dagegen, die gelegentlich auch in der freien Natur leben, oder sich zumindest dort einige Zeit aufhalten können, liegt naturgemäß das Temperaturminimum tiefer. So ist der Milzbranderreger noch bei $+7^{\circ}\text{C}$ vermehrungsfähig und *Salmonella typhi* bei $+9^{\circ}\text{C}$ (Kolle, Kraus und Uhlenhuth (26)).

Bei Unterschreitung des Temperaturminimums können Mikroorganismen sehr lange im Zustand latenten Lebens verharren (Kolle, Kraus, Uhlenhuth (26)).

Besonders sehr tiefe Temperaturen erweisen sich als ein Mittel zur unveränderten Erhaltung von pathogenen Keimen. So vertragen nach Kallert (20) Bakterienaufschwemmungen mehrere Tage die Temperatur der flüssigen Luft von -192°C , ja sogar die Temperatur des flüssigen Wasserstoffes von -252°C . Kallert (20) betont, daß diese hohe Resistenz gegen Kälte auch die Erreger menschlicher und tierischer Erkrankungen zeigen, so die Erreger des Milzbrandes, der Tuberkulose und des Paratyphus. Auch Albert (1) berichtet, daß *Salmonellabakterien* im Gefrieren monatelang bei -18°C bis -20°C voll lebensfähig blieben, und daß selbst vier Wochen einwirkende Temperaturen von -196°C diese Bakterien nicht zum Absterben brachten.

Nach Kollé, Kraus, Uhlenhuth (26) wird aber oft auch eine keimabtötende Wirkung durch Kälte beobachtet. Die Keimzahlen gehen dann in Kulturen, Suspensionen oder natürlichen keimreichen Substraten anfangs schroff, dann allmählich zurück.

B. Die Keime der Typhus-, Paratyphus-, Enteritisgruppe (Salmonellen)

1.) Eigenschaften, Vorkommen, Systematik, Nomenklatur

Die Keime der Typhus-Paratyphus-Enteritisgruppe werden zu Ehren von Salmon und Smith, die im Jahre 1886 den Typ *Salmonella cholerae-suis* beschrieben, nach Bergey's Manual (5) Salmonellen benannt und die von ihnen hervorgerufenen Krankheiten Salmonellosen. Soweit diese Keime Enteritiden bei Mensch und Tier hervorrufen, spricht man auch von den "Enteritiseimen". Die Salmonellen sind gramnegative, mit Ausnahme von *Salmonella pullorum*, begeißelte und bewegliche Bakterien, die als Gattung in die Familie der *Enterobacteriaceae* gehören. Nach dem Stand vom 31. 12. 1957 Dräger (7) sind über 600 serologisch differenzierte Typen dieser Gattung bekannt, davon wurden in Deutschland 140 Typen festgestellt. Im wesentlichen lassen sich drei große epidemiologisch wichtige Arten von Krankheitserregern unterscheiden:

- a) Die bei Menschen standortgebundenen Erreger, nämlich *Salmonella typhi* und *Salmonella paratyphi* A, B und C. Sie verursachen septikämische Erkrankungen mit besonderer Auswirkung auf den Darm.
- b) Die bei Tieren standortgebundenen Erreger. Hier ist ein bestimmter Salmonellentyp nur für eine bestimmte Tierart pathogen, wie beispielsweise

Salmonella abortusequi für das Pferd, oder Salmonella pullorum für das Huhn. Die Aufnahme weniger Keime mit der Nahrung genügt, um eine septikämische Erkrankung hervorzurufen. Nach Standfuß (45) werden diese Erkrankungen auch als die primären "Tierparatyphosen" bezeichnet, wobei aber ausdrücklich zu betonen ist, daß die Erreger der primären und sekundären "Tierparatyphosen" mit den Erregern des menschlichen Paratyphus nicht identisch sind.

- c) Die Erreger von Sekundärinfektionen bei Tieren und die "Lebensmittelvergifter". Hierzu ist die Mehrzahl aller Salmonellatypen zu rechnen. Diese Keime kommen normalerweise in sehr geringer Zahl als Saprophyten im Darm der Tiere vor. Sie können sich dort trotz der optimalen Temperatur von ca. $+37^{\circ}\text{C}$ nicht vermehren, da sie durch die Begleitflora vor allem durch die Kolikeime niedergehalten werden. Erst bei einer Störung des Allgemeinbefindens der Tiere im Verlaufe irgendeiner Erkrankung, die auch meistens eine Störung der Magen-Darmflora zur Folge hat, vermögen sich die Salmonellen erheblich zu vermehren und u. U. in das parenterale Körperinnere einzudringen und so eine sekundäre Infektion, oder nach Standfuß (45) eine sekundäre "Tierparatyphose" hervorzurufen.

Die Erreger dieser Sekundärerkrankungen sind nach Schönberg (41) gleichzeitig die hauptsächlichen Erreger von Lebensmittelvergiftungen. Man nennt sie daher auch die "Lebensmittelvergifter" oder die "Fleischvergifter". Nach Dräger (7) werden 80 bis 85 % aller Lebensmittelvergiftungen durch diese Erreger hervorgerufen. Die beiden wichtigsten Vertreter unter ihnen sind Salmonella typhimurium und Salmonella dublin.

2. Die Vermehrungsfähigkeit der Salmonellen unterhalb $+37^{\circ}\text{C}$ insbesondere bei Kühlraumtemperaturen

Die Literaturangaben darüber lassen sich einteilen:

- a) In Aussagen ohne ausdrückliche Berufung auf durchgeführte Untersuchungen.
 - b) In durchgeführte Untersuchungen.
- a) Es sei zunächst ein typisches Beispiel (Rasch (36)) angeführt, wie diese zahlreich im Schrifttum niedergelegt sind: Die beiden Hinterviertel eines latent mit Salmonellen infizierten Rindes wurden in einem Betrieb sofort verarbeitet und als Hackfleisch an zahlreiche Kunden verkauft. Das Hack-

fleisch wurde zum Teil roh genossen, wonach fünf Personen an Fleischvergiftung erkrankten. Das ist eine verhältnismäßig geringe Zahl, woraus geschlossen wird, daß die Menge der im Muskelfleisch vorhandenen Keime nicht sehr groß gewesen sein kann. Die beiden Vorderviertel hingegen wurden an einen anderen Betrieb verkauft und hingen dort bis zur Verarbeitung in Wurstgut mehrere Tage im Kühlraum. Bei der Probeentnahme aus dem Wurstgut wurden Salmonellen in großer Zahl festgestellt; diese müssen also Gelegenheit gehabt haben, sich in der Zwischenzeit reichlich zu vermehren. Rasch (36) vertritt dabei die Ansicht, daß das im Kühlraum geschehen sei. Rasch (36) erwähnt aber auch die Möglichkeit der Vermehrung während des Transportes der Fleischviertel von H. nach E. bei einer Mittagstemperatur von $+19^{\circ}\text{C}$ und während der Verarbeitung des Fleisches in Wurstgut. - Die Frage bleibt offen, ob sich die Salmonellen wirklich bei einer Temperatur von -1°C bis 0°C vermehrt haben, wenn man die Temperatur einer modernen Kühlanlage zugrunde legt. Nach einer veralteten Kühlmethode wurde Fleisch bei $+4^{\circ}\text{C}$ bis $+6^{\circ}\text{C}$ gekühlt (Lerche, Goertler, Rievel (30)). Die erste Schnellkühlanlage in der Bundesrepublik kam 1951 in Betrieb (Frühwald (10)).

Schönberg (42, 43) dagegen fordert, daß zur Verhütung von Lebensmittelvergiftungen notgeschlachtete Tiere nur im Kühlhaus aufbewahrt werden dürfen, und er weist auf die Tatsache hin, daß Lebensmittelvergiftungen besonders in der warmen Jahreszeit auftreten. Schönberg (42, 43) mißt also der Vermehrung der Salmonellen bei Kühlhaustemperatur keine große Bedeutung bei.

Dieselbe Meinung vertreten Lerche, Goertler und Rievel (30). Sie betonen, daß es nur die psychrotolerante Flora ist, die sich bei Temperaturen bis zu -7°C vermehrt, und weiter stellen sie fest, daß eine beachtliche Vermehrung der Salmonellen nur bei höheren Temperaturen geschehe. Ein einfacher Kühlraum oder mäßige Zimmertemperaturen würden nicht ausreichen, weshalb Lebensmittelvergiftungen durch Salmonellen auch vorwiegend in der warmen Jahreszeit auftreten.

Auch Ketz (23) betont, daß zur Auslösung einer Fleischvergiftung eine Anreicherung erforderlich ist, wie sie im Wurstbrät und Hackfleisch in der warmen Jahreszeit gegeben sein kann.

- b) Experimentelle Untersuchungen zur Vermehrungsfähigkeit der Salmonellen unter $+37^{\circ}\text{C}$ sind in der Mehrzahl der Fälle an Fleisch und Organen durchgeführt worden.

Es werden zunächst acht Versuche angeführt, die über das "Eindringungsvermögen" oder nach anderer verwendeter Ausdrucksweise über das "Einwandern", "Einwuchern" und "Einwachsen" von Salmonellen in Fleisch und Organe gemacht wurden. Das Eindringen der Salmonellen in Fleisch ist nicht dasselbe wie ihre Vermehrung in Fleisch, denn Salmonellen sind begeißelte Bakterien, die vermöge ihrer Eigenbewegung in die Tiefe von Fleisch einwandern können. Nach Standfuß (45) sind diese postmortalen Verbreitungswege der Salmonellen die natürlichen Saftlücken zwischen der Muskulatur wie die Blut- und Lympfbahnen. Es besteht aber nach Kollé, Kraus, Uhlenhuth (26) eine Parallelität zwischen der Intensität der Vermehrung von Mikroorganismen und ihren sonstigen Lebensäußerungen, vor allem der Eigenbewegung. Praktisch wird daher das postmortale Durchwachsen eines Fleischstückes oder eines Organes sowohl durch fortgesetzte Zellteilung der Salmonellakeime, wie durch Eigenbewegung zustande kommen. Es ist daher zweckmäßig, das Eindringen von Salmonellen in Fleisch und Organe in das Thema ihrer Vermehrungsfähigkeit mit einzubeziehen.

Basenau (4) war der erste, der einen solchen Versuch unternahm. Er impfte Fleischstücke 2 cm unter der Oberfläche mit dem *Bac. bovis moribificans* und bewahrte sie bei einer Temperatur von $+13^{\circ}\text{C}$ auf. Nach 30 Stunden konnte er die Keime 4 cm von der Impfstelle und nach 50 Stunden 6 cm von ihr entfernt nachweisen. Bei einem zweiten Stück tröpfelte er auf die frische Schnittfläche einige Tropfen Bouillonkultur und bewahrte die Fleischstücke in einer feuchten Kammer bei Zimmertemperatur auf. Nach 48 Stunden waren die Keime 6 cm von der Impfstelle entfernt. Bei einem dritten Versuch wurde ein Stück Fleisch an einem Ende oberflächlich infiziert und auf dieses ein zweites Stück aufgelegt. Nach 48 Stunden waren die Keime 6 cm in dem aufgelegten Stück vorgedrungen.

Meyer (33) stellte unter Anwendung einer ähnlichen Versuchsanordnung wie Basenau (4) fest, daß *Bac. paratyphi B* und *Bac. enteritidis* Gärtner bei gewöhnlicher Zimmertemperatur von $+14^{\circ}\text{C}$ bis $+18^{\circ}\text{C}$ nach 24 Stunden 11 bzw. 14 cm in das Fleisch hineinwucherten. Die Menge der in das Fleisch eingedrungenen Bakterien nahm von der Oberfläche nach dem Zentrum in der Regel ab, manchmal aber wimmelte auch das Innere des Fleisches von Fleischvergäfern. Für diesen auffälligen Unterschied sieht Meyer

(33) gewisse Voraussetzungen: Die Menge und Art der Begleitbakterien. Ferner hatte er den Eindruck, daß ein schlechter Ernährungszustand, Überanstrengung und Ermüdung des Schlachttieres, hohes Alter und weibliches Geschlecht die Muskulatur so beeinflussen, daß sie dem Eindringen und Tiefenwachstum der Keime einen geringeren Widerstand entgegensetzten.

Es muß hierbei berücksichtigt werden, daß die Typendifferenzierung der Salmonellen damals noch nicht sehr weit fortgeschritten war, vor allem verwischte sich der Unterschied zwischen *Salmonella paratyphi* B und *Salmonella typhimurium* (Breslau) (Dräger (8)). Es kann sich also hier und in folgenden Literaturangaben auch um *Salmonella typhimurium* gehandelt haben.

Trautmann (49) infizierte ein Fleischstück von 12 cm Kantenlänge an einem Ende mit "Milzkurzstäbchen", die aus der Milz eines an Fleischvergiftung gestorbenen Knaben stammten. Das Fleischstück war oberflächlich und in der Tiefe nach 48 Stunden vollständig durchsetzt. Angaben über die Temperatur fehlen.

Aus den umfangreichen Versuchen von Amako (3) seien zwei erwähnt. Er beimpfte Fleischstücke an umschriebener Stelle mit einer Öse Bouillonkultur von *Bac. paratyphi* B. Dieses Fleisch wurde dann sofort eine Minute lang in ein Ölbad von $+20^{\circ}\text{C}$ getaucht und darauf 4 Stunden in 2%ige Sublimatlösung eingelegt. Danach wurde das Fleischstück 48 Stunden bei $+37^{\circ}\text{C}$ bebrütet. Das Fleisch zeigte sich nach mehreren Versuchen im Innern immer steril. Der gleiche Versuch aber mit Leber, Milz und Niere ausgeführt, zeigte selbst bei Verwendung sehr kleiner Mengen Kultur stets Wachstum der Paratyphusbakterien, besonders in der Leber. Es zeigte sich also, daß die Keime rascher in Organe eindringen als in die Muskulatur, am raschesten in die Leber.

Amako (3) machte auch zum ersten Mal Versuche bei Eisschranktemperaturen. Er strich auf die Oberfläche von Fleischstücken einige Ösen einer Paratyphus B-Kultur aus und bewahrte die Fleischstücke bei Eisschrank-, Zimmer- und Bruttemperatur auf. Selbst bei Eisschranktemperatur (keine exakte Temperaturangabe!) waren die Keime nach 6 Stunden 0,5 cm und nach 24 Stunden 1 cm unter die Geweboberfläche eingedrungen. Bei Zimmertemperatur waren sie nach 6 Stunden 1 cm und nach 24 Stunden 3 cm tief eingedrungen. Bei $+37^{\circ}\text{C}$ waren sie nach 6 Stunden 3 cm und nach 24 Stunden durch das ganze Stück hindurchgewachsen.

Grunt (13) hat die Oberfläche eines Fleischstückes mit Paratyphus B-Bakterien infiziert. Dann wurde nach 8 Minuten die Oberfläche des Fleischstückes abgebrannt. Die Bakterien konnten in der Tiefe des Fleischstückes erst vernichtet werden, nachdem die abgebrannte oberflächliche Zone eine Dicke von 5 mm besaß. Grunt (13) schließt daraus, daß die Bakterien während der 8 Minuten in eine Tiefe von über 5 mm eingedrungen sein müssen (Keine Temperaturangabe).

Zwick und Weichel (52) untersuchten das Eindringungsvermögen der Fleischvergifter in von Faszien bedeckte und unbedeckte Muskulatur, wenn sie oberflächlich mit Fleischvergiftern beimpft wurden. Bei Eisschränktemperatur (keine genaue Angabe), waren die Enteritiskeime in von Faszien unbedeckten Muskel nach fünf Tagen 1 cm tief gewuchert, während die mit Faszien bedeckte Muskulatur nach dieser Zeit unmittelbar subfascial noch steril war. Bei Zimmertemperatur drangen die Keime nach 2 - 3 Tagen durch die Faszien und bei $+37^{\circ}\text{C}$ bereits nach 20 - 24 Stunden.

Standfuß und Schnauder (46) untersuchten die Frage, ob Fleischvergifter in das Knochenmark einzudringen vermögen. Sie stellten drei Versuchsreihen bei Zimmertemperatur an. Bei der ersten wurden Knochen in eine Aufschwemmung von Fleischvergiftern eingelegt, bei der zweiten wurden Knochen teils zwischen beimpftem Fleisch, teils in natürlichem Zusammenhang mit beimpftem Fleisch gelassen. Bei der dritten wurden ganze Tierkörper kleiner Versuchstiere verwendet, denen in die verschiedensten Körperstellen Fleischvergifterkulturen eingespritzt wurden. Bei allen drei Versuchsreihen konnte festgestellt werden, daß ein Eindringen von Fleischvergiftern in das Knochenmark bei starkem Keimgehalt schon nach 1 - 2 Tagen erfolgte. Bei schwachem Keimgehalt wurde ein Eindringen der Fleischvergifter nicht beobachtet.

Auch Standfuß und Reinstorf (47) untersuchten das Eindringungsvermögen von Fleischvergiftern in das Knochenmark. Es wurden Mischkulturen von Fleischvergiftern in verschiedener Menge, nämlich 50 ccm unverdünnte 24-Stunden bebrütete Bouillonkultur, oder verdünnt 1 : 25, 1 : 50, 1 : 75, 1 : 100, in die Muskulatur ganzer Fleischviertel eingespritzt. Die Fleischviertel wurden zunächst bei einer Temperatur von $+14^{\circ}\text{C}$ bis $+22^{\circ}\text{C}$ 6 - 13 Tage aufgehängt. Dabei gelang es in jedem Fall, die Fleischvergifter im Knochenmark nachzuweisen, selbst wenn die Menge der in das Fleisch eingespritzten Keime nur sehr gering war. Bei den Fleischvierteln, die bei -1°C bis $+10^{\circ}\text{C}$ 9 und 17 Tage aufbewahrt wurden, waren keine Fleischvergifter

im Knochenmark nachzuweisen, obwohl in einem Falle 50 ccm unverdünnte Fleischvergifterbouillonkultur an verschiedenen Stellen eingespritzt worden war. Es wird in dieser Arbeit ausdrücklich betont, daß die Fleischvergifter, um von einer bestimmten Stelle aus in den Knochen eindringen zu können, die Möglichkeit weitgehender Vermehrung in den benachbarten Fleischteilen haben müssen. Bei dem Versuch bei Temperaturen von -1°C bis $+10^{\circ}\text{C}$ scheint also eine solche Vermehrung nicht der Fall gewesen zu sein.

Weiterhin werden noch folgende Versuche angeführt:

Henninger (17) hat Schweine- und Kälberlebern intravital und postmortal mit Salmonella Gärtner, Salmonella Breslau, Salmonella suis-pestifer und Salmonella Schottmüller infiziert. Bei einer Temperatur von 0°C bis -4°C konnten die Keime bis 4 Monate nachgewiesen werden. Bei einer Temperatur von -8°C bis -10°C dagegen bis zu 15 Monaten. Es zeigte sich, daß im Verlaufe des Versuches die Keimzahl stark absank, und daß die Abnahme der Keimzahl der Breslau-Bakterien eine geringere war als die der übrigen Salmonellen. Eine nach 9 Monaten entnommene Probe wurde 2 Tage bei $+8^{\circ}\text{C}$ bis $+10^{\circ}\text{C}$ aufbewahrt, wobei nach dieser Zeit eine Keimvermehrung nicht eingetreten war.

Die Untersuchungen von Riechert (39) scheinen mir besonders aufschlußreich, weshalb ich sie ausführlicher zitiere. Riechert (39) bestrich auf der Schnittfläche von Fleischwürfeln von 18 cm Kantenlänge eine Fläche von 4 qcm mit Breslaukeimen, um das Wachstum der Keime auf dem Infektionsfeld, ihr Oberflächenwachstum über das Infektionsfeld hinaus und das Tiefenwachstum bei verschiedenen Temperaturen und verschiedener Beschaffenheit des Fleisches zu beobachten. Der p_{H} -Wert des Fleisches lag bei allen Versuchen innerhalb der für Salmonellen gültigen Wachstumsbreite von $p_{\text{H}}-5,0$ bis $p_{\text{H}}+8,6$. Riechert (39) weist ausdrücklich darauf hin, daß er innerhalb dieses p_{H} -Bereiches keine Wachstumsdifferenzen beobachten konnte.

Im Temperaturbereich von $+3^{\circ}\text{C}$ bis $+10^{\circ}\text{C}$ stellte er fest, daß kein Wachstum eintrat, wenn das Fleisch von fester Konsistenz und ziemlich trockener Schnittfläche war. Die Keime nahmen auf dem Infektionsfeld ab und verschwanden nach einigen Tagen.

War das Fleisch von weicher Konsistenz und die Schnittfläche etwas feucht, trat eine vorübergehende Vermehrung auf dem Infektionsfeld, ein Wachstum über das Infektionsfeld hinaus und ein Tiefenwachstum auf. Nach 6 Ta-

gen waren aber wieder alle Keime abgestorben. - Beim näheren Durchsehen dieser Ergebnisse ist ein merkwürdiges Verhalten der Keime auffallend, worauf der Verfasser nicht ausdrücklich hinweist, nämlich, daß die Keime von der Infektionsfläche verschwinden und an anderer Stelle auftreten. Hier sind die Keime auf dem Infektionsfeld vom sechsten Tage an nicht mehr nachzuweisen, während sie aber am 4. und 5. Tage vorübergehend 1 cm neben dem Infektionsfeld auftreten. (Ein ähnliches noch auffallenderes Verhalten der Keime s. unten bei Versuch 11 und 12.) War dagegen das Fleisch von weicher Konsistenz und die Schnittfläche während des ganzen Versuches gleichbleibend feucht, war in zwei Fällen nach 8 Tagen das ganze Fleischstück mit Keimen durchwuchert. In einem Fall trat nur eine vorübergehende Vermehrung auf.

Zweimal wurde der Versuch mit nicht entblutetem Fleisch, das von verendeten Kühen stammte, durchgeführt. Hier setzte ein Oberflächen- und Tiefenwachstum erst nach einigen Tagen ein, um dann rasch das ganze Fleischstück zu durchwuchern. Der Verfasser deutet das verspätete Wachstum auf nicht entblutetem Fleisch mit der noch anfänglich vorhandenen Bakterizidie des Blutes.

Beim 11. Versuch war das Fleisch von ziemlich fester Konsistenz und gleichbleibender, wenig feuchter Schnittfläche. Die Keime waren hier vom 4. Tag ab auf dem Infektionsfeld nicht mehr nachzuweisen. Während sie aber vom 5. Tag ab über die ganze Oberfläche neben dem Infektionsfeld und durch das ganze Fleischstück hindurchwucherten und sich dabei stark vermehrten,

Beim 12. Versuch war das Fleisch von mittelfester Konsistenz und gleichbleibender, etwas feuchter Schnittfläche. Die geringe Keimzahl auf dem Infektionsfeld blieb während des Versuches gleich. Dagegen wuchsen die Keime in großer Zahl über die ganze Oberfläche neben dem Infektionsfeld und durch das ganze Fleischstück.

Im Ganzen ist aus diesem Versuchsabschnitt zu ersehen, daß der Feuchtigkeitsgehalt des Fleisches das Wachstum der Keime begünstigt, worauf der Verfasser auch ausdrücklich hinweist.

In sieben Versuchen bei -1°C bis $+3^{\circ}\text{C}$ unter gleichen Versuchsbedingungen nahm die Keimzahl auf dem Infektionsfeld in sechs Fällen sofort ab. Einmal kam eine vorübergehende Vermehrung vor. Bemerkenswert ist auch bei diesem letzten Versuch wieder, daß in vier Fällen wenige Keime 2 - 3 cm neben dem Infektionsfeld und dreimal 2 - 3 cm in der Tiefe für kurze Zeit festgestellt wurden. Nach längstens 14 Tagen war aber das Fleischstück wie-

der keimfrei.

Beim zweiten Versuchsabschnitt, -1°C bis $+3^{\circ}\text{C}$, ist im Vergleich zum ersten die deutlich hemmende Wirkung der tieferen Temperatur auf das Wachstum der Keime zu sehen.

Sulzbacher (44) stellte fest, daß mesophile Mikroorganismen, auch *Salmonella anatum* und *Salmonella choleraesuis*, weder auf Frischfleisch noch auf aufgetautem Gefrierfleisch wuchsen, wenn die Proben bei $+7^{\circ}\text{C}$ während fünf Tagen aufbewahrt wurden.

Grüttner (14) und Struck (48) haben zwei in Material und Methodik sehr ähnliche Untersuchungen vorgenommen, die aber zu sich widersprechenden Ergebnissen geführt haben:

Grüttner (14) hat das Fleisch von 3 Rindern, die Dauerausscheider waren, bakteriologisch untersucht, nachdem die Tierkörper zwei Tage im Kühlraum gehangen hatten. Es muß die veraltete Kühlmethode von $+4^{\circ}\text{C}$ bis $+6^{\circ}\text{C}$ angenommen werden, da die Untersuchungen im Jahre 1943/44 durchgeführt wurden (s. o. Seite 5). Es wurden keine Salmonellen festgestellt. Die Tierkörper wurden weiter im Kühlraum belassen und nach 2 Tagen erneut Plattenaussaaten angelegt. Außerdem wurden Plattenaussaaten angelegt von den für die erste Untersuchung entnommenen und dann bei Zimmertemperatur aufbewahrten Fleischproben. Bei Kuh 1 konnte nur in dem bei Zimmertemperatur aufbewahrten Fleisch *Salmonella* Gärtner nachgewiesen werden, bei Kuh 2 auch in der frisch dem Tierkörper entnommenen Probe, bei Kuh 3 war kein Fleischvergifter festzustellen. Nach weiteren vier Tagen wurden erneut von dem im Kühlraum hängenden Fleisch Plattenaussaaten angelegt. Es gelangten keine Salmonellen mehr zum Nachweis, auch nicht, nachdem diese zuletzt entnommenen Proben weitere zwei Tage bei Zimmertemperatur aufbewahrt und erneut untersucht wurden.

Auf eine Keimvermehrung lassen diese Untersuchungen also nicht schließen, höchstens auf eine vorübergehende in der Zeit zwischen 1. und 2. Untersuchung. Daher betont der Verfasser in diesem Aufsatz die Wichtigkeit der Kühlagerung des Fleisches, um den spärlich vorhandenen Keimen die Vorbedingungen zur natürlichen Anreicherung zu nehmen.

Struck (48) hat 63 Fälle von Kälbern, bei denen in einem oder mehreren Organen Salmonellen festgestellt wurden, die Muskulatur aber als keimfrei bezeichnet wurde, mit dem Ziel nachuntersucht, ob es zu einer späteren

ren Anreicherung von Salmonellen in der Muskulatur kommen kann. Die Kälber wurden im Kühlraum aufbewahrt und die Muskulatur zweimal in achttägigem Abstand nachuntersucht. Es kann hier im Jahre 1957 die moderne Kühlmethode bei -1°C bis $+0^{\circ}\text{C}$ angenommen werden (s. o. Seite 5). Bei der ersten Nachuntersuchung nach 8 Tagen wurden bei 5 Kälbern Salmonellen bei direkter Aussaat gefunden, bei 10 Kälbern durch Anreicherung. Bei der zweiten Nachuntersuchung nach weiteren 8 Tagen trat ein neuer positiver Fall auf bei direkter Aussaat, 12 neue Fälle im Anreicherungsverfahren. Bemerkenswert war, daß in drei Fällen die Salmonellen wieder verschwanden, die bei der ersten Nachuntersuchung nachgewiesen worden waren. Struck (48) weist auf Grund seiner Untersuchungsergebnisse darauf hin, daß sich Salmonellen bei Kühlhaustemperatur vermehren.

Piening (34) untersuchte das Wachstum der Salmonellen bei verschiedenen Temperaturen in Kotproben, die von bekannten Dauerausscheidern stammten. Er fand, daß aus den meisten Proben, wenn sie bei -8°C bis -10°C 24 Stunden aufbewahrt wurden, keine Enteritiseime mehr gezüchtet werden konnten. Nach 4 Tagen verlief die Untersuchung völlig negativ, während der Nachweis von Keimen von bei Zimmertemperatur aufbewahrten Proben noch nach 4 Wochen unvermindert gelang. Die im Kühlraum bei $+2^{\circ}\text{C}$ bis $+5^{\circ}\text{C}$ gelagerten Proben zeigten im allgemeinen ebenfalls ein mäßiges Wachstum von Keimen.

C. Bedeutung für die Lebensmittelhygiene

Die Vermehrungsfähigkeit der Salmonellen bei tiefen Temperaturen ist innerhalb der Lebensmittelhygiene für die Entstehung von Lebensmittelvergiftungen von Bedeutung.

1.) Die Pathogenese von Lebensmittelvergiftungen durch Salmonellen

Pathogenetisch handelt es sich bei einer Lebensmittelvergiftung nach Dräger (7) um eine Intoxikation; Die mit der Nahrung aufgenommenen Salmonellabakterien geben im Magen-Darmkanal des Menschen beim Absterben die in ihrer Leibessubstanz enthaltenen Endotoxine frei, die eine Vergiftung gewöhnlich in Form einer fieberhaften Gastroenteritis hervorrufen. Lebende Enteritiseime, die in schweren Fällen vom Darm aus in die Lymph- und Blutbahnen gelangen, können einen septikämischen Zustand hervorrufen. Für das Zustan-

dekommen einer solchen Intoxikation ist aber eine Mindestdosis von Giften erforderlich, d. h. es müssen eine große Menge Bakterien mit der Nahrung aufgenommen werden. Wenige Salmonellakeime genügen nicht, um eine Lebensmittelvergiftung hervorzurufen.

2.) Die Infektion von Lebensmitteln mit Salmonellen

Ein großer Prozentsatz von Salmonellosen des Menschen wird durch Fleisch und Fleischwaren hervorgerufen. Die Infektion des Fleisches kann eine intra-vitale sein. Es kann sich dabei um eine latente Infektion handeln, die folgende Pathogenese hat: Bei einer Störung der Magen-Darmflora können sich wenige im Darm befindliche Salmonellakeime so erheblich vermehren, daß die Tiere zu Bakteriendauerausscheidern werden. Gelegentlich besiedeln die Salmonellen bei Dauerausscheidern über die Lymph- und Blutbahn Organe und Fleischlymphknoten. Man trifft sie dort nur in geringer Zahl an, solange die Tiere über die nötigen Abwehrkräfte verfügen. Solche latent infizierte Tiere zeigen keine Krankheitserscheinungen und bei der Fleischbeschau findet man oft keinerlei pathologisch-anatomische Veränderungen. Es ist daher nach Rasch (36, 37, 38), Klein (24) leicht möglich, daß mit Salmonellen infizierte Tierkörper unerkannt die Fleischbeschau passieren. Die Möglichkeit einer latenten Infektion durch Salmonellakeime kann auch dadurch gegeben sein, daß sie von einer früheren Salmonellose herrührend noch in geringer Zahl in Fleisch, Lymphknoten und Organen zurückgeblieben sind. Auch in diesen Fällen zeigen die Tiere keine Krankheitserscheinungen und es liegen oftmals keine pathologisch-anatomischen Veränderungen vor. Aber selbst dann, wenn bei Verdacht auf Fleischvergifter eine bakteriologische Untersuchung durchgeführt wird, kann diese nach Glässer und Reuter (12), Lenz (27), trotz tatsächlichem Vorhandensein der Bakterien negativ verlaufen. Nach Schönberg (41) hängt es oftmals nur vom Zufall ab, ob der Nachweis des Vorhandenseins weniger Keime überhaupt gelingt. - Eine massive Infektion des Fleisches mit Salmonellen geschieht natürlich im Verlauf einer sekundären "Tierparatyphose".

Zu den Erregern der primären "Tierparatyphosen" (s. o. Seite 3) ist zu bemerken, daß sie nach neueren Erkenntnissen (Dräger (7)) nicht ausschließlich tierpathogen sein müssen. So sollen nach Dräger (7) Lebensmittelvergiftungen auch durch *Salmonella abortus equi* vorgekommen sein und auch Fritsche (9) berichtet über eine Lebensmittelvergiftung durch *Salmonella pullorum*.

Andererseits ist nach Dräger (7) auch *Salmonella paratyphi* B nicht ausschließlich menschenpathogen, da auch Kühe an latenten und akuten Infektionen durch *Salmonella paratyphi* B erkranken können. Eine intravitale Infektion des Fleisches durch diesen Keim ist daher nicht ausgeschlossen.

Salmonellosen des Menschen werden oft auch durch postmortal infiziertes Fleisch verursacht (Lerche (29)). Eine solche Infektion kann leicht durch Unsauberkeit der Schlachthalle und der Schlachtgeräte (Kelch (21)) oder durch tierische Salmonellenausscheider geschehen. Nach Dräger (7) ist die Hauptquelle für postmortale Fleischinfektionen aber der Mensch selbst, wenn er nach einer durchgemachten Salmonellose zum Dauerausscheider geworden ist (Meyer (32), Inger (19)).

Bei der postmortalen Infektion des Fleisches durch menschliche Bakterienträger kommt natürlich auch eine Infektion mit *Salmonella typhi* und *paratyphi* in Frage. Nach Hirschbruch und Markgraf (18) bleiben Typhusbakterien auf verschiedenen Fleischsorten bis zu 50 Tagen lebensfähig, gleichgültig ob das Fleisch bei Zimmertemperatur oder Eisschranktemperatur aufbewahrt wird.

Auch durch Fliegen, Ratten und Mäuse und deren Ausscheidungen können Salmonellen auf Fleisch übertragen werden.

Gerade für Fleisch ist nun die Frage nach der Vermehrungsfähigkeit der Salmonellen bei tiefen Temperaturen von besonderer Bedeutung, da Fleisch in Schlachthöfen oft 4 - 5 Wochen im Kühlraum aufbewahrt wird (Frühwald (11)), und weiter viel Zeit verstreichen kann, bis das Fleisch über den Mittel- und Kleinbetrieb zum Verzehr kommt. Da die Infektion des Fleisches oftmals aber nur eine sehr geringe ist, müßte die Vermehrung der Salmonellen bei einer Kühlraumtemperatur von -1°C bis 0°C eine sehr erhebliche sein, um eine Fleischvergiftung auslösen zu können. Letzteres gilt allerdings nur für die Enteritisekeime und nicht für *Salmonella typhi* und *paratyphi*, da hier wenige Keime genügen, um Typhus und Paratyphus zum Ausbruch zu bringen.

Eine weitere häufige Infektionsquelle für Salmonellosen des Menschen sind Milch und Milchprodukte (Lütje (31), Klein (25)). Milch ist nach Dräger (7) ein ausgezeichneter Nährboden für Salmonellen und die Infektionsmöglichkeiten der Milch sind sehr zahlreich. - Am häufigsten wird Milch beim Melkakt durch infektiöse Kotpartikelchen von Bakterienausscheidern verunreinigt (Rasch (37, 38), Harms (16)), seltener ist nach Pohl (35) und Rasch (37) die direkte Keimausscheidung mit der Milch aus dem Euter. Eine große Rolle spielen bei

der Milchinfektion menschliche Bakterienausscheider und zwar kommt hier auch den Typen *Salmonella typhi* und *paratyphi B* eine große Bedeutung zu, 20 % bis 25 % aller Typhus- und Paratyphusepidemien sind nach Dräger (7) auf Milchinfektionen zurückzuführen. Weitere Infektionen der Milch sind auf Unsauberkeit der Geräte zurückzuführen, mit denen Milch in Berührung kommt.

Neben Milch werden vielfach durch Eier und Eiprodukte Salmonellosen verursacht, (Keller (22), Alterauge (2), Schäfer, Martin und Haas (40)). Vor allem kommen Enteneier hierfür in Frage, aber auch Huhnereier sind oft mit Salmonellen verseucht (Winkle, Rohde und Bischoff (50), Bischoff (6)). Die Infektion des Eies erfolgt nach Zeller (51) entweder schon im Eierstock, oder im Eileiter durch die Eileiterschleimhaut. Am häufigsten geschieht es, daß die Keime durch die Eischale eindringen, wenn das Ei mit salmonellahaltigem Geflügelkot beim Legen verunreinigt wird.

Wie bei Fleisch erhebt sich auch bei Milch und Eiern wieder die Frage nach der Vermehrungsfähigkeit der Salmonellen in diesen Lebensmitteln, wenn diese bis zum Verzehr noch einige Zeit gelagert werden. Auch hier kann es sich ursprünglich um nur geringgradige Infektionen handeln, so daß eine kräftige Keimvermehrung vorausgesetzt werden muß, wenn eine Lebensmittelvergiftung ausgelöst werden soll.

Neben diesen drei Hauptinfektionsquellen für Lebensmittelvergiftungen sei noch kurz erwähnt, daß alle Lebensmittel Salmonellosen verursachen können, wie z. B. Fische, Obst, Gemüse, Margarine usw.

III. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Es wurde mir zur Aufgabe gestellt, in eigenen Versuchen die Temperatur festzustellen, bei der eine Vermehrung der Salmonellen beginnt und ob ferner verschiedene Salmonellatypen und verschiedene Nährmedien Unterschiede der Vermehrungsfähigkeit bedingen.

Die Untersuchungen lassen sich einteilen:

1. In eine ausführliche Untersuchung mit Verdauungsbouillon und Milch als Nährmedien.
2. In eine kurze Untersuchung mit Eiern als Nährmedium.

A. Material und Methodik

Ad 1.) Zu meinen Untersuchungen verwendete ich die zwei Hauptvertreter unter den Lebensmittelvergiftern, Salmonella typhimurium und Salmonella dublin und den tierpathogenen Typ Salmonella abortusequi. Die Bakterienstämme wurden mir vom diagnostischen Laboratorium des tierhygienischen Instituts zur Verfügung gestellt. Bei Salmonella typhimurium und Salmonella dublin handelte es sich um frisch aus Organen isolierte Keime. Salmonella abortusequi befand sich schon seit einiger Zeit in der Stammsammlung.

Als Nährmedium verwendete ich in der Nährbodenküche des Institutes hergestellte Verdauungsbouillon (Hallmann (15)) und Vollmilch. Die Vollmilch war eine Vorzugsmilch, die ich mir aus einem Milchgeschäft besorgte. Vor dem Versuch wurde die Milch durch dreimaliges Erhitzen keimfrei gemacht.

Das Prinzip der Untersuchungsmethode bestand darin, daß ich, ausgehend von einer bestimmten Keimzahl in 1 ccm Nährmedium, durch Auszählen der Keime in Zeitabständen eine Vermehrung bzw. Keimabnahme bei verschiedenen Temperaturen feststellte.

Im einzelnen führte ich meine Untersuchungen nach folgender Methode durch:

Um eine feststehende Keimzahl zu erhalten, führte ich zunächst mit den drei Salmonellastämmen Vorversuche aus. Dazu entnahm ich von einer Schrägagarkultur eine Öse Keimmateriel und beimpfte ein Röhrchen mit Verdauungsbouillon, das 18 - 20 Stunden bei $+37^{\circ}\text{C}$ bebrütet wurde. Von dieser stark getrübbten Bouillon wurde mit einer Öse ein neues Röhrchen Bouillon beimpft und 18 Stunden bei $+37^{\circ}\text{C}$ bebrütet. Dieser Vorversuch wurde sechsmal wiederholt. Eine

sofortige Keimauszählung nach 18 Stunden ergab regelmäßig eine Keimzahl, die zwischen 700 Millionen bis 1 Milliarde Keime pro 1 ccm Bouillon schwankte. Dabei lag die Keimzahl von *Salmonella typhimurium* fast immer etwas höher, als die der beiden anderen Stämme. Die Keimauszählung geschah auf folgende Weise: Es wurde von der 18stündig bebrüteten Bouillonkultur eine Verdünnungsreihe $1; \frac{1}{10} \frac{1}{10^2} \dots$ in steriler physiologischer NaCl-Lösung hergestellt. Von den $\frac{1}{10} \frac{1}{10^2}$ Keimaufschwemmungen verschiedenen Verdünnungsgrades wurden mit einer Pipette je 0,1 ccm auf Agarplatten gebracht und ausgespatelt. Nach 24stündiger Bebrütung der Platten bei $+37^{\circ}\text{C}$ waren auf den Platten, die der Keimverdünnung von $\frac{1}{10^6} = D^{-6}$ entsprachen, leicht auszählbar 70 - 100 Kolonien gewachsen. $\frac{1}{10^6}$ In 1 ccm befanden sich also 700 - 1000 Keime, und in der unverdünnten Bouillon $700^6 - 1000^6$ Keime.

Die folgende Versuchsanordnung wurde für jeden der drei *Salmonellastämme* und für jeden überprüften Temperaturbereich getroffen: Nach der in den Vorversuchen erprobten Methode stellte ich mir eine 18stündig bebrütete Bouillonkultur her. Von dieser Bouillonkultur mit nun bekannter Keimzahl in 1 ccm wurde in physiol. NaCl-Lösung eine Keimverdünnung von D^{-4} hergestellt. Davon wurde 1 ccm zu 99 ccm Bouillon bzw. Milch in einem Glaskolben hinzugefügt. Es war somit in 100 ccm Milch bzw. Bouillon eine Keimverdünnung von D^{-6} erreicht, d. h. in 1 ccm befanden sich zwischen 700 und 1000 Keime.

Diese Keimverdünnung wurde als Ausgangskeimaufschwemmung für den Kühlversuch verwendet. Die Glaskolben wurden in den Kühlschrank eingestellt, nachdem zuvor die entsprechenden Temperaturen einreguliert worden waren. Die Kühltemperaturen lagen bei ca. $\pm 0^{\circ}\text{C}$, bei ca. $+5^{\circ}\text{C}$, bei $+9^{\circ}\text{C}$ und bei ca. $+12^{\circ}\text{C}$. Für die Kühlung bei $\pm 0^{\circ}\text{C}$ und bei $+5^{\circ}\text{C}$ verwendete ich einen normalen Kompressor-Haushaltskühlschrank. Es traten dabei Temperaturschwankungen auf, die von -1°C bis $+1^{\circ}\text{C}$ und von $+4^{\circ}\text{C}$ bis $+6^{\circ}\text{C}$ reichten. Für die Kühlung bei $+9^{\circ}\text{C}$ verwendete ich einen Laboratoriumskühlschrank, der eine genaue Temperatureinstellung gestattete. Für die Kühlung bei ca. $+12^{\circ}\text{C}$ verwendete ich wieder den Haushaltskühlschrank, wobei Temperaturschwankungen von $+10^{\circ}\text{C}$ bis $+14^{\circ}\text{C}$ auftraten.

Von den im Kühlschrank befindlichen Keimaufschwemmungen wurden in 24 Stunden bzw. 48 Stunden, oder in längeren Zeitabschnitten Proben entnommen und davon mit einer Pipette je 0,1 ccm auf mindestens 3 Agar- oder Gassnerplatten gebracht und ausgespatelt. Nach 24stündiger Bebrütung der Platten bei $+37^{\circ}\text{C}$ wurden die gewachsenen Kolonien der drei Platten zusam-

mengezählt und daraus das arithmetische Mittel gebildet. Die so ermittelten Werte werden nachfolgend graphisch dargestellt.

Ad 2.) Für die Versuche mit Eiern wurden dieselben drei *Salmonellastämme* benützt.

Als Nährmedium verwendete ich Hühnereier. Damit sie mit ziemlicher Sicherheit keimfrei waren, verwendete ich höchstens 2 Tage alte Eier aus einer Hühnerfarm.

Die folgende Versuchsanordnung gilt für jeden der drei *Salmonellastämme* und für jeden untersuchten Temperaturbereich: Genau wie in den vorhergehenden Versuchen stellte ich mir aus einer 18stündig bebrüteten Bouillonkultur eine Keimverdünnung in physiologischer NaCl-Lösung bis D^{-4} her. Von dieser Keimaufschwemmung beimpfte ich nun mit 0,5 ccm 5 möglichst gleichgroße und mittelgroße Eier. Hühnereier von mittlerer Größe haben einen nachgemessenen Rauminhalt von ca. 51 ccm. Auf den Rauminhalt des ganzen Eies rechnerisch bezogen, habe ich somit wieder eine Keimverdünnung von etwa D^{-6} . Die tatsächliche Keimdichte war natürlich an der Impfstelle eine größere. Für die Keimauszählung ist dieser Umstand aber ohne Bedeutung, da die gleichmäßige Verteilung der Keime nach der Kühlung der Eier durch Homogenisieren der ganzen Eimasse erreicht wurde. Die Anzahl der vorhandenen Keime in 0,1 ccm der homogenisierten Eimasse ist daher wieder ein Maß für die Zu- oder Abnahme der Keime während der Kühlung. Bei der Beimpfung der Eier achtete ich darauf, daß die Keime mit der Injektionsnadel unter sterilen Kautelen möglichst in den Eidotter appliziert wurden, da nach Lerche (28) nur der Eidotter ein sehr guter Nährboden für Salmonellen ist, während das Eiklar durch seine bakteriziden Eigenschaften wachstumshemmend wirkt. Erst nach 4 - 6 Wochen verliert das Eiklar durch Änderung des chemischen und physikalischen Aufbaues und durch Diffusion des Dotters seine bakterizide Eigenschaft und bildet ebenfalls einen günstigen Nährboden.

Die so beimpften Eier wurden in den Kühlschrank eingestellt. Die Eier wurden bei ca. $+5^{\circ}\text{C}$ 12 Tage gekühlt, bei ca. $+12^{\circ}\text{C}$ 4 Tage. Nach 12 bzw. 4 Tagen wurde der Eiinhalt eines jeden Eies in je einem Glaskolben durch kräftiges 10 Minuten langes Schütteln homogenisiert. Von dieser Eimasse wurden wieder 0,1 ccm auf Platten ausgespatelt und nach Bebrütung der Platten bei $+37^{\circ}\text{C}$ aus der Zahl der gewachsenen Kolonien das arithmetische Mittel gebildet. Die gefundenen Werte werden nachfolgend in Tabellenform angegeben.

B. Versuche, Ergebnisse

1. Versuche mit Bouillon und Milch

Soweit im Verlaufe dieser Versuche keine Vermehrung stattfand, wurde der Versuch bis zu mindestens 3 Wochen ausgedehnt, um eine evtl. Gewöhnung an die tiefe Temperatur und ein verspätetes Einsetzen der Vermehrung beobachten zu können. Setzte eine Vermehrung ein, wurde der Versuch nur solange ausgedehnt, bis der Grad der Vermehrung deutlich darstellbar war. Die Keime wurden in diesem Falle wieder durch Zwischenschalten von Verdünnungsreihen ausgezählt.

Die Untersuchungsergebnisse werden an Hand von 7 graphischen Darstellungen erläutert. Die Ordinate gibt die Keimzahlen in 0,1 ccm Nährmedium an, die Abszisse die Dauer des Kühlversuches in Tagen. Die in den Kurven markierten Punkte entsprechen den Tagen der Keimauszählung.

Jede graphische Darstellung beschreibt die Keimzu- bzw. Keimabnahme der drei *Salmonellastämme* bei einer bestimmten Temperatur. Es werden immer je ein Versuch mit Bouillon und Milch bei der gleichen Temperatur nebeneinander aufgeführt, um die Unterschiede, die durch die Nährmedien bedingt sind, deutlicher aufzuzeigen.

I. Versuch
mit Bouillon bei ca. $+ 0^{\circ} \text{C}$



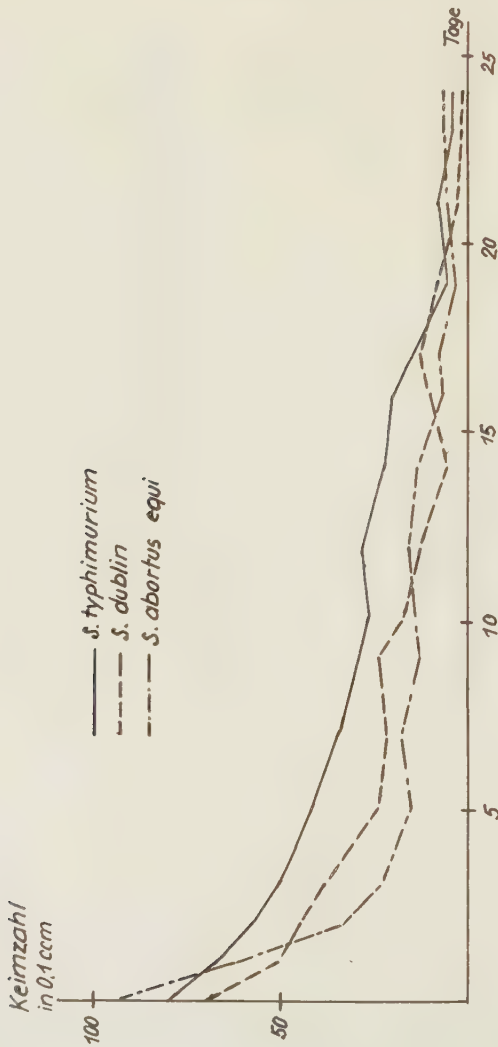
Die Keimzahl nimmt in den ersten fünf Tagen stark ab. Nach zehn Tagen sind nur noch zwischen 1 und 10 Keime auszählbar. Nach 21 Tagen sinkt die Keimzahl fast auf 0.

II. Versuch
mit Milch bei ca. $+0^{\circ}\text{C}$



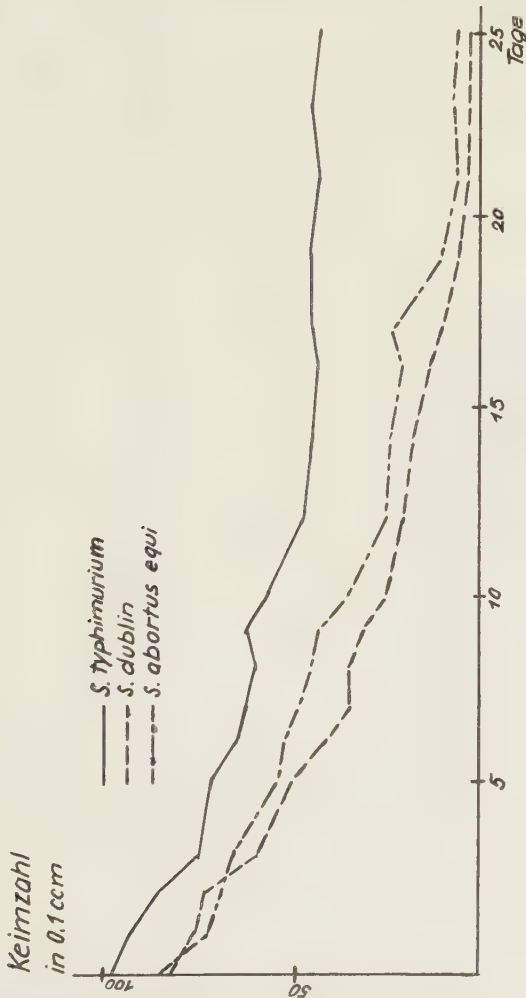
Die Keimzahl aller drei Salmonellastämme geht rasch zurück. Die Keimabnahme verläuft jedoch etwas langsamer und gleichmäßiger als bei Versuch I. Außerdem ist die Keimabnahme von *Salmonella typhimurium* eine geringere als die der übrigen Salmonellastämme. Am 21. Tag sind aber nur wieder zwischen 0 und 10 Keime aller Salmonellastämme auszählbar.

III. Versuch
mit Bouillon bei ca. $+5^{\circ}\text{C}$



Die Keimabnahme verläuft fast genauso wie bei Versuch II.

IV. Versuch
mit Milch bei ca. $+5^{\circ}\text{C}$



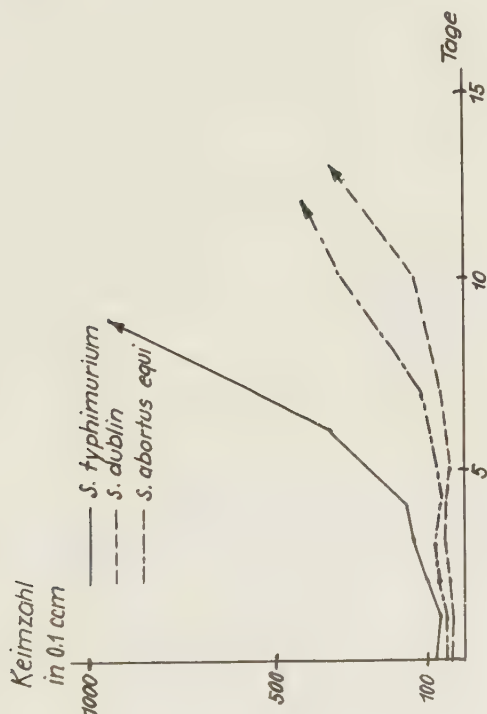
Die Keimzahl von *Salmonella typhimurium* nimmt bis zum 16. Tage sehr langsam ab. Vom 16. bis zum 25. Tage bleibt sie fast gleich. Am 25. Tage werden noch über 50 Keime in 0,1 ccm ausgezählt. Die übrigen *Salmonella*-keime werden langsam und gleichmäßig weniger. Am 21. Tage sind von ihnen nur noch zwischen 0 und 10 Keime auszählbar.

V. Versuch
mit Bouillon bei + 9°



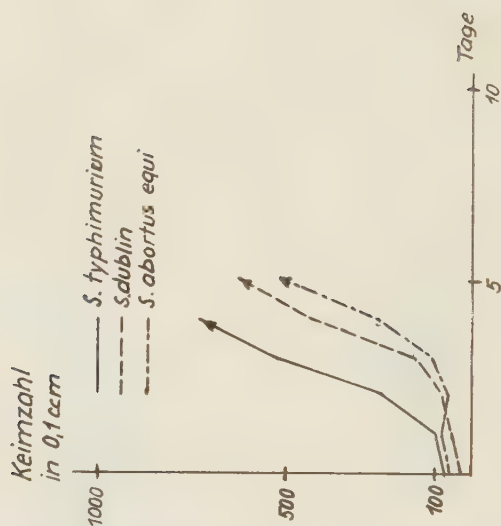
Die Keimzahl von *Salmonella typhimurium* geht in den ersten 3 Tagen langsam zurück, in den nächsten 5 Tagen nimmt sie langsam zu, dann erfolgt schnellere Zunahme. Am 9. Tage werden 210 Keime ausgezählt. Die anderen *Salmonellakeime* werden langsam weniger: Am 21. Tage werden von *Salmonella abortus equi* 60, von *Salmonella dublin* 21 Keime ausgezählt.

VI. Versuch
mit Milch bei $+9^{\circ}\text{C}$



Die Keimzahl aller drei *Salmonella*-Stämme nimmt zu. Am raschesten die von *Salmonella typhimurium*. Die Vermehrung beginnt hier am 2. Tage. Am 4. Tage werden 150, am 6. Tage 370 und am 9. Tage 960 Keime ausgezählt. Die Keimzunahme von *Salmonella dublin* und *Salmonella abortus equi* beginnt ungefähr am 5. Tage. Am 10. Tage werden von *Salmonella dublin* 130, von *Salmonella abortus equi* 330 Keime, am 12. Tage von *Salmonella abortus equi* 410 und am 13. Tage von *Salmonella dublin* 350 Keime ausgezählt.

VII. Versuch
mit Bouillon bei ca. $+12^{\circ}\text{C}$



Die Keimzunahme aller drei *Salmonellastämme* erfolgt noch rascher als bei Versuch VI. Am raschesten vermehrt sich auch bei diesem Versuch *Salmonella typhimurium*. Die Keimzunahme setzt hier am 2. Tage ein. Am 4. Tage werden 720 Keime gezählt. Die Keimzunahme von *Salmonella dublin* und *Salmonella abortusequi* beginnt ungefähr am 2. Tage. Am 5. Tage werden von *Salmonella abortusequi* 500 und von *Salmonella dublin* 620 Keime ausgezählt.

Ein Versuch in Milch bei ca. $+12^{\circ}\text{C}$ wurde nicht durchgeführt, da sich alle drei Salmonellatypen bereits bei $+9^{\circ}\text{C}$ in Milch vermehrten.

2. Versuche mit Eiern

Die Untersuchungen mit Milch und Bouillon gaben bereits Aufschluß über die Vermehrungsfähigkeit der Salmonellen bei tiefen Temperaturen. Daß sich bei einem Versuch mit Eiern kein sehr großer Unterschied zeigen würde, konnte ich annehmen. Es war lediglich mit geringgradigen Abweichungen von den bisherigen Untersuchungsergebnissen zu rechnen. Ich habe daher die kritische Temperatur von ca. $+5^{\circ}\text{C}$ daraufhin überprüft, ob bei dieser Temperatur, im Gegensatz zu den Versuchen mit Bouillon und Milch, eine Vermehrung stattfindet. Die Kühlung der Eier bei dieser Temperatur wurde nur 12 Tage ausgedehnt, da aus den vorhergehenden Versuchen hervorging, daß ein Einsetzen der Vermehrung nach mehr als 8 Tagen nicht stattfindet. Einen Kontrollversuch unternahm ich bei ca. $+12^{\circ}\text{C}$, den ich nach 4 Tagen beendete. Nach dieser Zeit mußte sich erfahrungsgemäß die Vermehrung deutlich abzeichnen.

Die Versuche mit Eiern werden in Tabellenform dargestellt.

VIII. Versuch mit Eiern bei ca. $+5^{\circ}\text{C}$

Anfangskeimdichte 70-100 Keime in 0,1 ccm

Keimdichte 12 Tage nach der Beimpfung in 0,1 ccm:

	E i					Durchschnitt aller 5 Eier 41 Keime
	I	II	III	IV	V	
<i>S. typhimurium</i>	78	60	45	22	1	
<i>S. dublin</i>	77	59	56	17	10	44 "
<i>S. abortusequi</i>	81	44	39	12	4	36 "

Die in den einzelnen Eiern ermittelten Keimzahlen sind sehr unterschiedlich. Sie überschreiten jedoch in keinem Fall die ursprünglich beimpfte Keimmenge. Im Durchschnitt fand bei allen drei Typen eine schwache Keimabnahme statt. Typendifferenzen traten nicht auf.

IX. Versuch
mit Eiern bei ca. +12° C

Anfangskeimdichte 70 - 100 Keime in 0,1 ccm

Keimdichte 4 Tage nach der Beimpfung in 0,1 ccm:

	E i					Durchschnitt aller 5 Eier
	I	II	III	IV	V	
<i>S. typhimurium</i>	940	610	550	490	40	526 Keime
<i>S. dublin</i>	450	350	250	220	200	294 "
<i>S. abortusequi</i>	230	220	190	150	120	182 "

Nach 4 Tagen zeichnet sich die Vermehrung der Salmonellen deutlich ab; abgesehen von einem Fall, am deutlichsten bei *Salmonella typhimurium*.

C. Besprechung der Ergebnisse

Die Untersuchungen mit Milch und Bouillon haben ergeben, daß bei einer Temperatur von ca. 0° C, die der Temperatur einer modernen Kühlanlage entspricht, die Keimzahl der Salmonellen rapid zurückgeht. Auch bei einer Temperatur von +5° C fand noch keine Vermehrung statt. Dagegen trat bei +9° C zum Teil und bei ca. +12° C in allen Fällen eine Vermehrung ein. Auffallend ist dabei, daß die Vermehrung der Keime nicht sofort, sondern erst nach einem oder mehreren Tagen einsetzte. Auf Grund dieser Untersuchungsergebnisse kann also für die Vermehrungsfähigkeit der Salmonellen ein kritischer Temperaturbereich von ca. +5° C bis ca. +10° C angegeben werden.

Innerhalb der angelegten Untersuchungsreihen zeigten sich außerdem Unterschiede in der Vermehrung, die teils durch die verschiedenen *Salmonella*-stämme, teils durch die Verschiedenheit der Nährböden bedingt waren: Die Keimabnahme von *Salmonella typhimurium* war eine geringere als die der anderen untersuchten Stämme (Versuch II, III und IV) und nur *Salmonella typhimurium* vermehrte sich in Bouillon bei einer Temperatur von +9° C (Ver-

such V). Andererseits war die Keimabnahme der Salmonellen in Milch überhaupt eine geringere als in Bouillon (Versuch II und IV) und im Temperaturbereich von $+9^{\circ}\text{C}$ vermehrten sich außer *Salmonella typhimurium* auch *Salmonella dublin* und *Salmonella abortusequi*.

Die Untersuchungen machen also auch deutlich, daß *Salmonella typhimurium* eine größere Resistenz gegen tiefe Temperaturen besitzt als die beiden anderen Stämme, und daß die Keime in Vollmilch bessere Vermehrungsbedingungen vorfinden als in Bouillon.

Auch in Eiern vermehrten sich die Salmonellen bei ca. $+5^{\circ}\text{C}$ nicht mehr. Gegen meine Erwartung traten aber Typendifferenzen zwischen *Salmonella typhimurium* und den beiden anderen Stämmen nicht auf. Außerdem ist auffallend, daß die ermittelten Keimzahlen in den einzelnen Eiern sehr unterschiedlich waren; In einigen Fällen war die Keimzahl stark zurückgegangen, in anderen Fällen war sie ungefähr gleich geblieben. Vielleicht ist der Grund darin zu sehen, daß die Keime doch mit dem Eiklar mehr oder weniger in Berührung kamen. Dafür sprechen vor allem zwei Fälle, wo ich einmal nur einen Keim und ein andermal 4 Keime gefunden habe. Außerdem sind bei diesen Versuchen gewisse Fehlerquellen darin zu sehen, daß bei der Entnahme des Eihaltens ein kleiner Rest an der Schale hängen blieb, und daß die Eier nicht völlig gleichgroß waren. Auch zu bedenken ist ferner, ob und inwieweit bei der 10 Minuten langen Durchmischung von Dotter und Eiklar bereits eine Schädigung der Keime durch das Eiklar stattfand.

Bei der Temperatur von ca. $+12^{\circ}\text{C}$ trat dagegen die Vermehrung der Keime wieder deutlich zu Tage. Einmal kam es aber vor, daß die Keimzahl von *Salmonella typhimurium* sogar zurückging, was ich wieder der Einwirkung des Eiklars zuschreibe. Davon abgesehen, wurde aber bei dieser Temperatur wieder deutlich, daß sich *Salmonella typhimurium* schneller vermehrt als die beiden anderen Typen.

Meine Untersuchungen weisen mit den in der Literatur angeführten keine Ähnlichkeit auf, da sie sich sowohl in Material als auch in der Methodik voneinander unterscheiden. Die in der Literatur erwähnten Untersuchungen sind mit Ausnahme einer Untersuchung mit Kot, an Fleisch und anderen Organen durchgeführt worden. Die Untersuchungsmethode bestand darin, daß von diesen festen Nährmedien Material entnommen wurde; durch direkte Ausstriche auf Platten oder durch Anreicherungsverfahren wurde dann die Vermehrung der Keime geprüft. Zum Teil wurde auch nur das Untersuchungser-

gebnis mitgeteilt, ohne die Methodik zu schildern. Meine Untersuchungen wurden dagegen mit flüssigen Nährmedien durchgeführt und die Vermehrung oder Keimabnahme wurde durch Keimzählung beobachtet. Ein Vorteil meiner Untersuchungsmethode ist in der größeren Genauigkeit zu sehen, da ich die Vermehrungsfähigkeit durch Keimzählung feststellen konnte. Ein Nachteil in lebensmittelhygienischer Sicht ist vielleicht darin zu sehen, daß ich meine Untersuchungen nicht an Fleisch und Organen durchführte, durch deren Verzehr die meisten Salmonellosen verursacht werden.

Meine Untersuchungen haben ohne Ausnahme gezeigt, daß bereits bei ca. $+5^{\circ}\text{C}$ keine Vermehrung der Salmonellen mehr stattfindet. Für die Lebensmittelhygiene würde das bedeuten, daß bei einer Kühlung von Fleisch nach moderner Methode bei -1°C bis $\pm 0^{\circ}\text{C}$ und auch nach veralteter Methode bei $+4^{\circ}\text{C}$ bis $+6^{\circ}\text{C}$ eine Vermehrung der Salmonellen nicht mehr vorkommt.

Ein Vergleich, inwieweit dieses Untersuchungsergebnis mit den Literaturangaben übereinstimmt, kann nicht ganz genau sein, da sich die überprüften Temperaturen auf der einen und der anderen Seite nicht völlig decken. Es läßt sich aber im wesentlichen feststellen, daß meine Untersuchungsergebnisse übereinstimmen mit den Ergebnissen von Riechert (39), -1°C bis $+3^{\circ}\text{C}$ und $+3^{\circ}\text{C}$ bis $+10^{\circ}\text{C}$; Grüttner (14), vermutliche Kühlraumtemperatur von $+4^{\circ}\text{C}$ bis $+6^{\circ}\text{C}$; Sulzbacher (44), $+7^{\circ}\text{C}$; Standfuß und Reinstorf (47), die selbst im Temperaturbereich von -1°C bis $+10^{\circ}\text{C}$ noch keine Vermehrung feststellen konnten. Meine Ergebnisse decken sich auch mit der im Lehrbuch geäußerten Ansicht von Lerche-Görtler-Rievel (30) und mit der Meinung von Schönberg (42, 43) und Ketz (23), die eine Vermehrung der Salmonellen bei Kühlraumtemperatur verneinen. Mit Henninger (17) stimme ich insofern überein, als auch er bei tiefen Temperaturen eine Keimabnahme von *Salmonella typhimurium* feststellte, die geringer war als die der anderen *Salmonellatypen*.

Ich fasse kurz nochmals die mir aus der Literatur bekannten Untersuchungsergebnisse zusammen, die mit meinen eigenen Ergebnissen nicht übereinstimmen. Wie bereits dargelegt, hat Piening (34) bei seinen Versuchen mit Kotproben bei einer Temperatur von $+2^{\circ}\text{C}$ bis $+5^{\circ}\text{C}$ gefunden, daß im allgemeinen ein mäßiges Wachstum von Salmonellakeimen stattfand. Struck (48) hat bei Untersuchungen von intravital infizierten Kälbern nach der Schlachtung festgestellt, daß eine Vermehrung der Salmonellen bei Kühlhaustemperatur in der Muskulatur eingetreten ist. Amako (3) hat gefunden, daß Salmonellakeime bei Eisschranktemperatur von der Oberfläche des Fleisches nach einiger Zeit unter die

Gewebsoberfläche eingedrungen sind. Einen ähnlichen Versuch wie Amako (3) unternahmen Zwick und Weichel (52) mit von Faszien unbedeckter Muskulatur. Auch sie fanden, daß die Salmonellakeime nach 5 Tagen 1 cm in die Tiefe der Muskulatur gewuchert waren. Rasch (36) führt gelegentlich einer vorgekommenen Fleischvergiftung die starke Vermehrung von Salmonellakeimen im Fleisch eines geschlachteten Rindes auf den Umstand zurück, daß die Vermehrung der Keime während der Lagerung des Tierkörpers im Kühlraum stattgefunden hat. Er räumt aber auch ein, daß die Keimvermehrung schon vorher während des Transportes des Fleisches bei hoher Temperatur eingetreten sein kann.

Es besteht also zwischen den Untersuchungsergebnissen der oben genannten 5 Autoren und den Resultaten meiner eigenen Untersuchungen keine Übereinstimmung, indem jene eine Vermehrung der Salmonellen bei Kühlraumtemperatur bejahen, während meine Untersuchungen in Übereinstimmung mit anderen Autoren (s. o. S. 30!) ein negatives Ergebnis gezeitigt haben. Ich weise auf den besonders krassen Widerspruch zwischen Struck (48) und Grüttner (14) hin, die fast die gleichen Untersuchungen an Tierkörpern im Kühlraum durchgeführt haben, dabei hat Struck (48) (im Jahre 1957) bei der vermutlich tieferen Kühlraumtemperatur von -1°C bis $+0^{\circ}\text{C}$ eine Vermehrung der Keime festgestellt, während Grüttner (14) (im Jahre 1943) bei einer vermutlich höheren Kühlraumtemperatur von $+4^{\circ}\text{C}$ bis $+6^{\circ}\text{C}$ keine Vermehrung beobachten konnte.

Es sei in diesem Zusammenhang nochmals betont, daß der Begriff der Kühlraumtemperatur kein einheitlicher ist. Vor 1951 verstand man darunter eine Temperatur von ca. $+4^{\circ}\text{C}$ bis $+6^{\circ}\text{C}$, während - von 1951 an - allmählich die moderne Schnellkühlung bei -1°C bis $+0^{\circ}\text{C}$ in der Bundesrepublik eingeführt wurde. Es sei auch auf die große Mannigfaltigkeit des unterschiedlichen Verhaltens der Salmonellen bei den Versuchen Riecherts (39) hingewiesen. Dort kam es sogar vor, daß sich die Fleischvergifter an ein und demselben Stück Fleisch an einer Stelle vermehrten, während sie an einer anderen Stelle abnahmen. Die Tatsache, daß diese auffallenden Widersprüche fast alle bei den Untersuchungen an Fleisch und Organen auftraten, während meine eigenen Untersuchungsergebnisse im wesentlichen eine Übereinstimmung zeigen, hat seinen Grund darin, daß Fleisch und Organe keine einheitlichen Nährböden darstellen. Fleisch, das aus hochkomplizierten Eiweißverbindungen besteht, kann in seiner biochemischen und physikalischen Beschaffenheit vielerlei Modifikationen aufweisen, Ernährungsphysiologisch be-

deutet das für die Salmonellen, daß sie immer wieder andere Wachstumsbedingungen vorfinden. So kann es geschehen, daß sie sich einmal bei einer bestimmten Temperatur unter günstigeren Ernährungsverhältnissen gerade noch vermehren, das andere Mal unter ungünstigeren nicht mehr. Bereits Meyer (33) hatte diese Gesichtspunkte im Auge, wenn er seine eigenen unterschiedlichen Untersuchungsergebnisse mit dem Ernährungszustand der Schlachttiere, mit dem weiblichen Geschlecht, mit der Menge und Art der Begleitflora, mit dem Alter und Übermüdung der Schlachttiere erklärte. Bekanntlich wird nach der Schlachtung während des rigor mortis das in der Muskulatur und den Organen befindliche Glykogen zu Milchsäure abgebaut. Die Milchsäurebildung hat ein Absinken des p_H -Wertes von mehr als p_H 7 auf p_H 5,4 bis p_H 5,7 zur Folge. Für die Fäulniskeime wie für die Salmonellen, deren Wachstumsoptimum bei p_H 7 liegt, bedeutet daher die Milchsäurebildung eine Wachstumsverzögerung. Der Körper kranker, schlecht genährter und übermüdeter Schlachttiere enthält aber wenig Glykogen. Die Salmonellen finden daher im Fleisch solcher Tiere infolge mangelhafter Milchsäurebildung von vornherein bessere Vermehrungsbedingungen vor. Nach Kolle-Kraus-Uhlenhut (26) gibt es antagonistische, aber auch begünstigende Einwirkungen von Bakterien in Mischkulturen. Die Ursache dieser Einwirkungen sind vielfach die Stoffwechselprodukte der Bakterien. Bei einer natürlichen Infektion des Fleisches mit Salmonellakeimen werden diese Keime aber immer mit anderen Bakterien (Fäulnisbakterien) zusammen vorkommen. Es ist daher leicht möglich, daß diese Begleitflora die Vermehrungsgeschwindigkeit der Salmonellen beeinflußt. Genaueres darüber müßten erst eingehende Untersuchungen erbringen. Riechert (39) fand in zwei Fällen, daß die Vermehrung durch die bakterizide Kraft des Blutes gehemmt wurde. Es spielen also auch nach der Schlachtung allgemeine humorale Abwehrkräfte eine Rolle.

Wie diese Ausführungen deutlich machen sollten, sind es bei Fleisch und Organen viele verschiedene Faktoren, welche die Vermehrungsfähigkeit von Salmonellen bei gleicher Temperatur beeinflussen. Darum kann auch das Temperaturminimum für die Vermehrung von Fall zu Fall verschieden sein.

Meine eigenen Untersuchungen haben bereits gezeigt, daß sich Salmonellen in Milch besser vermehren als in Bouillon. Es ist daher die Frage berechtigt, ob Fleisch bei einem günstigen Zusammentreffen vieler optimaler Bedingungen ein so ausgezeichnetes Nährmedium sein kann, daß selbst bei der Temperatur einer modernen Kühlanlage von -1°C bis $+0^{\circ}\text{C}$ eine Vermehrung noch stattfindet. Auf Grund meiner eigenen Untersuchungen, die in optimalem Nährmedium ohne störende Einflüsse bei ca. $+0^{\circ}\text{C}$ eine rapide Keimabnahme zeigten,

halte ich aber eine Vermehrung in Fleisch bei dieser Temperatur für unwahrscheinlich. Ich schließe mich daher auf Grund meiner eigenen Untersuchungen den Ansichten derjenigen Autoren an, die eine Vermehrung der Salmonellen bei der Temperatur moderner Kühlanlagen verneinen.

Die unterschiedlichen Resultate der an Fleisch und anderen Organen vorgenommenen Untersuchungen können wohl nur durch weitere eingehende Untersuchungen geklärt werden.

VI. SCHLUSSZUSAMMENFASSUNG

1. Es wurde die Vermehrungsfähigkeit von *Salmonella typhimurium*, *Salmonella dublin* und *Salmonella abortusequi* in Verdauungsbouillon und Milch in den Temperaturbereichen von ca. $+0^{\circ}\text{C}$, ca. $+5^{\circ}\text{C}$, $+9^{\circ}\text{C}$ und ca. $+12^{\circ}\text{C}$ überprüft. Die Vermehrungsfähigkeit derselben Salmonellastämme wurde in Eiern in den Temperaturbereichen von ca. $+5^{\circ}\text{C}$ und ca. $+12^{\circ}\text{C}$ überprüft.
2. Die drei Nährmedien wurden mit einer Keimaufschwemmung so beimpft, daß bei gleichmäßiger Verteilung der Keime 700 - 1000 Keime pro ccm des Nährmediums vorhanden waren. In Zeitabständen wurden von den im Kühlschrank aufbewahrten flüssigen Nährböden 0,1 ccm auf Agar- oder Gassnerplatten ausgespatelt und nach Bebrütung der Platten die Kolonien gezählt.
3. Die Versuche ergaben für die drei Salmonellastämme in den drei Nährmedien einheitlich, daß bei einer Temperatur von ca. $+5^{\circ}\text{C}$ keine Vermehrung mehr stattfindet. Bei ca. $+12^{\circ}\text{C}$ fand dagegen eine Vermehrung mit Sicherheit statt.
4. Die Vermehrung wie die Keimabnahme wiesen geringgradige Unterschiede auf, die teils durch die unterschiedlichen Salmonellastämme, teils durch die verschiedenen Nährböden bedingt waren: *Salmonella typhimurium* zeigte die größte Vermehrungsfähigkeit und war gegen Kälteeinwirkung am resistenten. Zwischen *Salmonella dublin* und *Salmonella abortusequi* traten keine Typendifferenzen auf. Die Vermehrungsfähigkeit bei tiefen Temperaturen bzw. die Resistenz der Salmonellen gegen Kälte war andererseits in Milch eine größere als in Bouillon.
5. Die zum Teil in der Literatur vertretene Ansicht, daß sich Salmonellen bei Kühlhaustemperatur vermehren, konnte durch meine Untersuchungen nicht bestätigt werden.

V. LITERATURVERZEICHNIS

1. Albert, O.H.: Untersuchungen über das Vorkommen von Salmonella-Bakterien in Eiprodukten ausländischer Herkunft.
Berl. u. Münchn. Tierärztl. Wschr. 70, 165, 1957
2. Alterauge, W.: Zur Überwachung des Verkaufs von Enteneiern im Rahmen der tierärztlichen Lebensmittelüberwachung und dem Auftreten von Salmonella typhimurium beim Menschen.
Der Lebensmitteltierarzt 5, 271, 1954
3. Amako, T.: Untersuchungen über das Conradische Ölbad und den Bakteriengehalt der Organe gesunder Tiere.
Zschr. f. Hygiene und Infektionskrankheiten 66, 166, 1910
4. Basenau: Über eine im Fleisch gefundene Bakterie.
Archiv für Hygiene 20, 288, 1894
5. Bergey: Manual of Determinative Bacteriology,
Baltimore. 6. Aufl. 1948
6. Bischoff, J.: Untersuchungen ausländischer Eiprodukte.
Berl. u. Münchn. Tierärztl. Wschr. 70, 111, 1957
7. Dräger, H.: Entstehung und Verhütung von Lebensmittelvergiftungen durch Salmonellabakterien.
Gustav Fischer-Verlag Jena 1958
8. Dräger, H.: Diagnostik der Bakterien der Salmonella-Gruppe und ihre Anwendung in der bakteriologischen Fleischuntersuchung.
Akademie-Verlag Berlin 4, 1951
9. Fritsche, K.: Über eine Lebensmittelvergiftung durch S. pullorum in Koblenz.
Der Lebensmitteltierarzt 2, 103, 1951
10. Frühwald, O.: Die Entwicklung der Kühltechnik in Deutschland nach Kriegsende unter besonderer Berücksichtigung der Schnellkühlung.
Zschr. Die Fleischwirtschaft 6, 138 ff, 1954

11. Frühwald, O.: Die Konservierung von Fleisch durch Kälte unter besonderer Berücksichtigung der Schnellkühlung.
Zschr. Die Fleischwirtschaft 8, 723, 1956
12. Glässer, K. und Reuter, H.: Ein bemerkenswerter Fall einer Fleischvergiftung.
Berl. u. Münchn. Tierärztl. Wschr. 8, 85 ff, 1948
13. Grunt, O.: Beitrag zur Frage des physiologischen Vorkommens von Bakterien im Fleisch gesunder Schlachttiere.
Zschr. für Fleisch- u. Milchhygiene 23, 123, 1933
14. Grüttner, F.: Über die natürliche Anreicherung der Fleischvergifter im Fleischkörper der geschlachteten Tiere.
Zschr. f. Fleisch- u. Milchhygiene 54, 193, 1943/44
15. Hallmann, L.: Bakteriologische Nährböden.
Georg Thieme-Verlag Stuttgart 1953
16. Harms, Fr.: Salmonellen-Dauerausscheider und Milchhygiene.
Dtsch. Tierärztl. Wschr. 66, 131-133, 1959
17. Henninger, E.: Versuche über die Haltbarkeit von Fleischvergiftungserregern in Gefrier-, Salz- und Pökelleber.
Zschr. f. Fleisch- und Milchhygiene 44, 84, 1934
18. Hirschbruch und Markgraf: Zur Frage der Haltbarkeit der Typhusbazillen auf verschiedenen Fleischarten.
Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamt 44, 300, 1933
19. Inger, A.: Bericht über eine Lebensmittelvergiftung in Nürnberg, hervorgerufen durch Dauerausscheider unter dem Personal einer Fleischerei.
Der Lebensmitteltierarzt 2, 161, 1951
20. Kallert, E.: Mikrobiologische Gesichtspunkte bei der Konservierung von Fleisch durch Einfrieren.
Der Lebensmitteltierarzt 4, 40, 1953
21. Kelch, F.: Über die Epidemiologie des postmortalen Befalls von Fleisch und Fleischwaren mit Salmonellabakterien.
Berl. u. Münchn. Tierärztl. Wschr. 185, 1954

22. Keller, H.: Über eine Enteneiervergiftung mit tödlichem Ausgang.
Der Lebensmitteltierarzt 8, 78, 1952
23. Ketz, A.: Zur Epidemiologie von Lebensmittelvergiftungen durch postmortal mit Salmonellen infizierte Fleischwaren.
Mh. Vet. med. 475, 1950
24. Klein, H.: Salmonella blockley als Ursache einer Lebensmittelvergiftung.
Arch. Lebensmittelhyg. 10, 6, 1959
25. Klein, H.: Salmonella manhattan in der Milch.
Berl. u. Münchn. Tierärztl. Wschr. 70, 313, 1957
26. Kolle, W., Kraus, R. und Uhlenhut, P.: Handbuch der pathogenen Mikroorganismen.
3. Auflage 117, 1929
27. Lenz, O.: Über Fleischvergiftungen.
Zschr. f. Hygiene 103, 321, 1924
28. Lerche, M.: Zur Entstehung bakterieller Lebensmittelschädigungen durch Geflügel- und Geflügelprodukte.
Dtsch. Tierärztl. Wschr. 44, 531 ff, 1936
29. Lerche, M.: Postmortaler Befall des Fleisches mit Fleischvergiftern.
Der Lebensmitteltierarzt 2, 1950
30. Lerche, Görtler, Rievel: Lehrbuch der tierärztl. Lebensmittelüberwachung.
Verl. M. u. H. Schaper, Hannover, 3. Auflage 1957
31. Lütje, F.: Salmonellosen nach Genuß von Milch und Milchprodukten.
Dtsch. Schlacht- und Viehhofzeitung 256, 1955
32. Meyer, F.: Umfangreiche bakterielle Lebensmittelvergiftung nach Genuß von weicher Mettwurst, verursacht durch Breslau-Bakterien-Träger.
Der Lebensmitteltierarzt 1, 116, 1950

33. Meyer, L.: Über Außeninfektion des Fleisches.
Zschr. f. Fleisch- u. Milchhygiene 20, 109 ff, 1910
34. Piening, C.: Weitere Beobachtungen bei der Enteritis-Bekämpfung.
Berl. u. Münchn. Tierärztl. Wschr. 703 ff, 1939
35. Pohl, G.: Beobachtungen bei der Enteritisbekämpfung des Rindes.
Monatshefte für Vet. Medizin 9, 449, 1954
36. Rasch, K.: Grenzen der Fleischvergiftungsprophylaxe und zur latenten Infektion mit Salmonellen beim Rinde.
Zschr. Der Lebensmitteltierarzt 4, 37, 1953
37. Rasch, K.: Das Salmonellenproblem in der Lebensmittelhygiene.
Zschr. Desinfektion und Gesundheitswesen 47, 97, 1955
38. Rasch, K.: Die Bekämpfung der Rindersalmonellose im Blickpunkt der Lebensmittelhygiene.
Berl. u. Münchn. Tierärztl. Wschr. 70, 161 ff, 1957
39. Riechert, P.: Wachstum von Bact. enteritidis Breslau auf künstlich infiziertem Fleisch bei Kühlschranktemperatur.
Vet. med. Diss. Berlin 1940
40. Schäfer, W., Martin, H. und Haas, F.: Darminfektion durch salmonellenverseuchte Eikonserven.
Med. Klin. 51, 1254, 1956
41. Schönberg, F.: Über die Entstehung von Fleischvergiftungen und ihre Verhütung durch die tierärztl. Fleischuntersuchung.
Verlag Schoetz, Berlin 1934
42. Schönberg, F.: Zur Verhütung von bakteriellen Lebensmittelvergiftungen in der warmen Jahreszeit.
Dtsch. Tierärztl. Wschr. 65, 1946
43. Schönberg, F.: Die Aufgaben der Tierärzte in der Lebensmittelhygiene unter besonderer Berücksichtigung der von Tieren stammenden Lebensmittel.
Zschr. Der Lebensmitteltierarzt 4, 201, 1953

44. Sulzbacher, W.L.: Effect of freezing and thawing on the growth rate of bacteria in Groud Meat, Food Technol. 386, 1950
45. Standfuß, R.: Bakteriologische Fleischbeschau.
Verlag Schoetz, Berlin 1936
46. Standfuß, E. und Schnauder:
Untersuchungen über das nachträgliche Eindringen von Fleischvergiftern in das Knochenmark.
Zschr. f. Infektionskrankheiten 28, 178, 1903
47. Standfuß, R. und Reinstorf, A.:
Weitere Untersuchungen über das nachträgliche Eindringen von Fleischvergiftern in das Knochenmark.
Zschr. f. Infektionskrankheiten der Haustiere 28, 257, 1925
48. Struck, M.: Kann es bei Tierkörpern, bei denen nur in den Organen Salmonellen festgestellt wurden, nachträglich zur Anreicherung von Salmonellen in der Muskulatur kommen?
Berl. u. Münchn. Tierärztl. Wschr. 70, 163, 1957
49. Trautmann, H.: Der Bacillus der Düsseldorfer Fleischvergiftung und die verwandten Bakterien der Paratyphusgruppe.
Zschr. f. Hygiene und Infektionskrankheiten 45, 139, 1903
50. Winkle, S., Rohde, R. und Bischoff, J.: Kritische Stellungnahme zu einem Gutachten gegen den Erlaß der Verordnung zum Schutze gegen Infektionen durch Erreger der Salmonellagruppe in Eiprodukten.
Münchn. med. Wschr. 99, 768-771, 1957
51. Zeller, M.: Zur Frage der Entstehung von Lebensmittelvergiftungen durch Genuß von Enteneiern.
Zschr. Der Lebensmitteltierarzt 5, 15, 1954
52. Zwick und Weichel: Zur Frage des Vorkommens von Bakterien im Fleische normaler Schlachttiere und zur Technik der bakteriologischen Fleischbeschau bei Not- schlachtungen. Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt 38, 327 ff, 1912

Am Schlusse meiner Arbeit begrüße ich die Gelegenheit, Herrn Professor Dr. Meyn für die Überlassung des Themas sowie für sein jederzeit freundliches und verständnisvolles Entgegenkommen zu danken.

Auch Herrn Dr. Schels bin ich sehr zu Dank verpflichtet für seine wertvollen Hinweise.

L e b e n s l a u f

Ich bin am 8. März 1922 als Sohn des Bibliotheksdirektors Dr. Eduard Johné und seiner Ehefrau Hedwig Johné, geb. Langer, in Donaueschingen geboren. Die Volksschule und das Gymnasium besuchte ich bis zu meiner Einberufung im Jahre 1941 zur Wehrmacht in Donaueschingen. Nach mehrjährigem Frontdienst, in dem ich verwundet wurde, und nach Kriegsgefangenschaft legte ich 1946 die Reifeprüfung am Donaueschinger Gymnasium ab. Hierauf studierte ich zuerst Rechtswissenschaft an der Universität Freiburg. Im Jahre 1952 entschloß ich mich zum Studium der Veterinärmedizin an der Universität München, wo ich im Herbst 1958 das Staatsexamen ablegte.

